ÉCOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Année 1971 **N° 82**

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CUIVRE CHEZ LES OVINS

DOSAGE DE LA CUPRÉMIE PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

THÈSE

pour le doctorat vétérinaire

Diplôme d'Université

présentée et soutenue publiquement en octobre 1971

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

Mohamed Ghazi YEHYA

Né le 2 avril 1943 à Tripoli-Marine (LIBAN)

Jury :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. TOURNUT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

CEPADUES

29, boul. Carnot, 29

TOULOUSE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536510_0025

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CUIVRE CHEZ LES OVINS

DOSAGE DE LA CUPRÉMIE PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE
Année 1971 **N° 82**

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CUIVRE CHEZ LES OVINS

DOSAGE DE LA CUPRÉMIE PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

THÈSE

pour le doctorat vétérinaire

Diplôme d'Université

présentée et soutenue publiquement en octobre 1971

devant

L'UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER DE TOULOUSE

par

Mohamed Ghazi YEHYA

Né le 2 avril 1943 à Tripoli-Marine (LIBAN)

Jury :

Président : M. DOUSTE-BLAZY, Professeur à l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Assesseurs M. RICO, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

M. TOURNUT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

CEPADUES
29, boul. Carnot, 29
TOULOUSE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : M. FLORIO
Directeurs Honoraires : MM. PONS, DARRASPEN Professeur Honoraire : M. LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire	M. GODFRAIN
Maître-Assistant	Mme BURGAT-SACAZE

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Professeur titulaire	M. RICO

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire	M. PAVAUX

Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Professeur titulaire	M. RUCKEBUSCH
Maître-Assistant Agrégé	M. FARGEAS

Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

CHAIRE D'HISTOLOGIE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire	M. VAN HAVERBEKE
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans chaire	M. CABANIE
Maître-Assistant	M. MAGNOL

Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

CHAIRE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire	M. LABIE
Maître-Assistant	M. EECKHOUTTE

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie
des denrées alimentaires d'origine animale

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire	M. BRIZARD
Maître-Assistant Agrégé	M. DORCHIES

Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MEDICALE DES EQUIDES ET CARNIVORES

Professeur titulaire	M. FLORIO
Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans Chaire	M. LESCURE
Maître-Assistant	M. GUELFI

Sémiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et déontologie - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire — M. TOURNUT

Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans Chaire — M. ESPINASSE

Maître-Assistant — M. BEZILLE

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de Basse-Cour - Clinique
Clinique ambulatoire

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire — M. CAZIEUX

Propédeutique et Sémiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire — M. BERTHELON

Maître de Conférences, non Chef de Service, Prof. sans Chaire — M. ROYAL

Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la Reproduction
Obstétrique - Clinique

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LEGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire — M. SAURAT

Maître-Assistant Agrégé — M. CHANTAL

Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

CHAIRE DE PATHOLOGIE GENERALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire — M. LAUTIE

Maître-Assistant — M. MEIGNIER

Microbiologie - Immunologie - Pathologie Générale

CHAIRE DE ZOOTECHNIE ET ECONOMIE RURALE

Professeur titulaire — M. QUEINNEC

Maître-Assistant — M. DARRE

Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène Générale
Zootechnie - Elevage - Economie Générale et des productions animales

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire — M. FALIU

Maître-Assistant Agrégé — M. GRIESS

Botanique appliquée et Bromatologie - Agronomie - Alimentation

- COURS COMPLEMENTAIRES - CHARGES D'ENSEIGNEMENT -

Antibiothérapie des Maladies Infectieuses	M. MONNIER
Aspect médical des Zoonoses	M. ARMENGAUD
Energétique	M. LABOUCHE
Initiation à l'Informatique Biomédicale	M. FERNET
Agronomie	M. COMBRET
Métabolismes	M. RAYNAUD

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891, et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Humble hommage pour tous les sacrifices qu'il a consentis à faire pour moi ; je lui dédie cet ouvrage en témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

A MES FRERES RACHID, BADIH ET FAROUK

Gage du profond attachement que je leur porte.

A MA MERE ET MES SOEURS

Pour toutes les joies qu'elles m'ont procurées.

A MES COUSINS, NOUHAD, KAMAL, ZOUHEIR ET SAAD KABBARA

En expression de ma profonde gratitude et ma respectueuse admiration.

A TOUTE MA FAMILLE

A MONSIEUR B. LANGAR,

Docteur vétérinaire

Qui guida mes premiers pas en pratique vétérinaire, en témoignage de notre amitié sincère et durable.

A MONSIEUR A. SEDRATI,

Docteur vétérinaire

En reconnaissance de l'aide incessante qu'il m'a toujours apportée.

A MESSIEURS H. MOURAD - M. MUSTOM,

Docteurs vétérinaires

Tous mes remerciements.

A TOUS CEUX QUE J'AIME

Expression de mon affection.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOUSTE-BLAZY

De la faculté mixte de médecine et de pharmacie à Toulouse

Qui a bien voulu nous faire le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages très respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR RICO

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Ce très modeste témoignage de notre profonde gratitude pour l'enseignement qu'il nous a donné, la sympathie qu'il nous a accordée, et les conseils qu'il nous a prodigués.

MONSIEUR LE PROFESSEUR TOURNUT

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Que nous remercions d'avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre profonde et respectueuse admiration.

A TOUS NOS MAITRES DE

L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ESPINASSE

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre gratitude et notre profond attachement à celui qui nous réserva toujours un accueil bienveillant.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LORGUE

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

En témoignage de sincère reconnaissance pour l'empressement qu'il a toujours mis à nous aider de ses conseils et de son expérience.

A TOUS NOS MAITRES DE

LA FACULTE DES SCIENCES A L'UNIVERSITE LIBANAISE

A TOUS NOS ENSEIGNANTS

AU LYCEE OFFICIEL DES GARCONS A TRIPOLI

A L'ECOLE TAHZIBIA DE TRIPOLI MARINE.

INTRODUCTION

Nos connaissances en physiologie des oligo-éléments restent encore, très restreintes. Actuellement bien des recherches sont effectuées pour élaborer des techniques analytiques biochimiques et physicochimiques afin de déterminer les taux normaux, les carences, les processus d'assimilation ou d'élimination de certains de ces éléments.

L'escalade des méthodes analytiques, les unes trop anciennes et inexactes laissant place aux autres plus modernes et plus efficaces, se poursuit aujourd'hui et sans doute évoluera toujours vers des horizons plus larges.

Nous nous proposons d'exposer dans ce travail une méthode que nous pensons intéressante à bien des points de vue : la spectrophotométrie par absorption atomique ; en estimant que les avantages qu'elle procure, pourront satisfaire le souci de l'analyse exacte, car à notre époque, les études minutieuses statistiques nécessitent, pour avoir une valeur réelle, une précision correcte des techniques.

Nous appliquerons cette technique au dosage du cuivre sérique chez les ovins, cette espèce payant le plus lourd tribut au déséquilibre métabolique de ce métal. C'est en étudiant ses différentes qualités et défauts que nous pourrons alors l'utiliser à bon escient.

PREMIERE PARTIE

Données générales sur le cuivre chez les ovins

- Biochimie du cuivre
- Importance de ses variations en pathologie ovine.

BIOCHIMIE DU CUIVRE

a) *Généralités* :

Le cuivre constitue un oligoélément indispensable ; il joue un rôle prépondérant dans l'édification et la destruction des principes biologiques, intervenant ainsi dans tous les métabolismes de la vie.

De nombreux travaux ont été associés à l'étude du cuivre en biochimie, mais apparemment sous des aspects plus statiques que dynamiques.

L'analyse plus systématisée du cuivre organique a permis de compléter rapidement les connaissances sur la répartition très générale de cet élément dans les tissus et son accumulation dans certains organes. Beaucoup d'entre eux sont particulièrement riches : le foie, le cerveau, la moëlle, le coeur, la prostate, le rein et la rate.

Les plus hautes concentrations ont été notées chez les ovins et les bovins, plus particulièrement dans le foie de ces espèces. Des dosages assez récents ont mis en évidence, chez le mouton, une quantité moyenne de 20 à 200 mg/kg de poids sec du cuivre dans le foie et de 4 à 6 mg dans le rein.

Les muscles et les os, surtout les côtes, occupent une place très particulière. En effet, c'est chez eux que l'on trouve le plus fréquemment de très hautes teneurs occasionnelles alors que normalement ils contiennent moins de cuivre que la rate, les poumons ou la peau. De même, une obser-

vation superficielle fait apparaître qu'une quantité très importante du cuivre de l'organisme est stockée dans les muscles ou le squelette, alors qu'en réalité ceci est dû, non à la concentration dans les tissus, mais à leur importance quantitative dans le corps.

D'autre part, il faut signaler que le corps des nouveau-nés contient deux ou trois fois plus de cuivre que celui des adultes de leur espèce. Le stockage maximal au niveau du foie étant enregistré pendant la vie intra-utérine, après cette période la concentration du cuivre hépatique décroît chez la plupart des espèces. Cependant, nous devons noter une exception importante à cette règle générale chez le mouton. Dans cette espèce, en effet, les taux, au lieu de descendre, tendent au contraire à croître après la naissance, puis à décroître jusqu'à la maturité comme chez la plupart des espèces.

Nous avons donc des organes, des tissus privilégiés. Nous allons donc étudier plus spécialement le problème du cuivre dans ceux-ci : foie, sang et aussi dans une production animale : le lait.

b) Le cuivre dans le foie :

A la suite de nombreux travaux, l'attention fut dirigée vers le rôle primordial du foie dans le stockage du cuivre. De même, on se rendit rapidement compte que l'on pouvait utiliser le foie comme élément de référence afin de connaître le taux de cuivre présent dans un orga-

nisme. La concentration cuprique dans le foie a donc été déterminée pour toute une lignée d'animaux incluant les espèces les plus différentes telles les mammifères, les oiseaux, les poissons, les reptiles et les amphibiens.

Les bovins, les canards, les grenouilles, de nombreux poissons et aussi l'espèce qui nous intéresse plus particulièrement, les ovins, possèdent des taux qui vont de 100 à 400 ppm dans le rendu sec.

Un facteur très important de variation du taux de cuivre hépatique est le régime. Cependant, si ce facteur a été reconnu primordial, nos connaissances actuelles sur ce sujet sont loin de nous satisfaire entièrement.

Le principal facteur diététique influençant le stockage hépatique du cuivre et, par conséquent, la concentration hépatique, est, sans contredit, la présence au sein du régime de quantités et proportions variables de cuivre, de molybdène et aussi de sulfates inorganiques. Il est néanmoins évident que le rôle de ces facteurs est étayé par celui d'autres qui sont malheureusement inconnus jusqu'à présent.

La provision du cuivre hépatique que possède le nouveau-né est très rapidement et fortement diminuée par un apport cuprique insuffisant par l'intermédiaire du lait. Ce fait a été démontré chez de nombreuses espèces et fort bien illustré par les travaux de BENNETS et BECK. Ces chercheurs ont trouvé que la concentration hépatique en cuivre de cinq

agneaux ataxiques provenant de brebis carencées en ce même élément, voisine 4 à 5 ppm, les mesures ayant été faites après dessication. Or, normalement, et chez des agneaux provenant de brebis entretenues dans des bonnes conditions, les concentrations du cuivre hépatique sont voisines de 120 à 350 ppm. Cependant, si l'apport insuffisant de cuivre influe grandement sur la teneur hépatique, l'inverse est faux. En effet, les doses supérieures aux besoins, administrées à la mère gestante, ne modifient guère la concentration hépatique chez le jeune. Ceci peut être attribué à la limite des capacités de passage à travers le placenta. Cette concentration hépatique en cuivre sera supérieure à la normale lors d'une supplémentation post-natale chez un animal bien pourvu en ce métal. Cette très importante augmentation révèle d'ailleurs que la capacité de stockage du foie vis-à-vis du cuivre est vraiment impressionnante.

D'autre part, BULL et coll. ont, les premiers, fait intervenir la présence d'un nouvel élément dont le rôle est primordial dans le stockage du cuivre dans le foie du mouton et du bétail : un accroissement de l'apport de molybdène sur le sol des pâturages où paissent ces animaux réduit très nettement les capacités de stockage du foie pour le cuivre.

Ces mêmes chercheurs ont aussi mis en évidence ultérieurement le rôle d'un second facteur : les quantités de sulfates inorganiques présentes dans le

régime. Ce composant a un rôle très important surtout chez le mouton.

a) Le cuivre dans le lait :

La concentration du cuivre dans cette production est influencée par l'intervention de trois principaux facteurs qui sont :

- l'espèce,
- le stade de lactation,
- la quantité de cuivre ingérée par l'animal producteur.

Des études bien détaillées ont montré que la teneur en cuivre du colostrum est beaucoup plus importante que celle du lait. La teneur de ce dernier décroît au fur et à mesure de la lactation à partir de teneurs très voisines de celles trouvées dans le colostrum pour finalement arriver au minimum en fin de lactation.

BECK trouve, par exemple, que le lait d'une brebis normale tombe progressivement de 0,20-0,60 mg/l, au début de la lactation, à 0,04-0,16 mg/l, quelques mois plus tard. Cependant, si cette observation est valable pour la plupart des sujets, certains ne suivent pas toujours cette règle.

Un autre fait fort intéressant est à noter : l'addition de cuivre à un régime déjà parfaitement équilibré en cet élément ne semble pas affecter la teneur en ce métal du lait de l'animal ingérant cette nourriture.

Inversement, si l'on fournit à des brebis ou à des vaches en lactation un régime carencé en cuivre, le lait fourni par ces animaux contient des concentrations subnormales en ce métal.

Il ressort de cette étude l'importance diététique qu'on doit accorder au lait, dans l'alimentation du nouveau-né.

d) Le cuivre dans le sang :

L'étude de la teneur du cuivre du sang total, du plasma et du sérum, a été faite sur toute une série d'espèces animales, les recherches étant poursuivies chez les individus sains ou malades.

Cependant, la détermination des quantités de cuivre contenues dans ces différents liquides était insuffisante et, ces dernières années, nos connaissances en la matière ont fortement progressées par la découverte de nombreuses combinaisons sous lesquelles se présente ce métal dans le sang et de leur répartition dans les différents composants de ce liquide.

En 1938, KEILIN et MANN ont isolé, à partir des hématies, un composé cupro-protéinique : l'hématocuprine. Il a été montré qu'il s'agissait d'un pigment bleu contenant 0,34 % de cuivre.

Dans le plasma, tout comme dans les hématies, 90 % ou plus du cuivre est présent sous forme

d'un composé bleu, la céruléoplasmine. Ce composé a été identifié comme étant une alpha 2 globuline de nature glycoprotéinique, de poids moléculaire 151 000, c'est une métalloprotéine, contenant 8 atomes de cuivre ; le plasma normal en contient 0,3 g/l.

Il ne semble pas, cependant, qu'elle puisse jouer un rôle dans le transport du métal, car ses échanges avec lui sont très limités. Néanmoins, elle possède une activité oxydasique vis-à-vis des substrats comme la dihydroxyphénylalanine ; cette propriété est utilisée dans son dosage. Le taux de la céruloplasmine augmente au cours des cirrhoses, des hépaties, de la grossesse ; il diminue au cours des néphroses.

Il convient d'envisager aussi le rôle du cuivre dans l'hématopoïèse, car cette connaissance est indispensable dans le traitement des anémies :

- le cuivre est nécessaire à la mobilisation du fer dans les tissus et à son utilisation pour l'hématopoïèse ;
- il active certaines enzymes d'oxydo-réduction, indispensable à l'hématopoïèse ;
- il peut prévenir, lors des anémies, la diminution du cytochrome A du cerveau, du foie, du coeur ;
- il facilite la respiration des érythrocytes assurée par le cytochrome.

Cependant, des travaux, d'ailleurs relativement

fragmentaires, montrent qu'il reste beaucoup à découvrir sur le rôle dynamique du cuivre dans l'organisme vivant.

Néanmoins, bien que sa fonction générale ne soit pas encore pleinement éclaircie, le cuivre présente un rôle trophique indéniable : ainsi, les atomes cuivriques interviennent au niveau cellulaire :

- soit comme constituants d'enzymes ; à ce titre, ils catalysent les réactions biochimiques ;
- soit comme constituants de transporteurs.

e) Rôle catalytique du cuivre :

C'est un catalyseur de nombreuses oxydases et un composant de certains catabolites tissulaires :

- il est indispensable à l'activité de plusieurs enzymes ; ainsi par exemple la polyphénoloxydase de la pomme de terre, privée de cuivre par dialyse, ne retrouve son pouvoir catalytique que par adjonction de cuivre.

. Le cuivre a été décelé comme un constituant essentiel de la cytochrome c oxydase, enzyme de nature hémoprotéinique, isolée en 1938 par KEILIN et HARTREE. L'unité de la cytochrome oxydase apparaît comme constituée d'un cytochrome a et un cytochrome a_3, chacun de ces cytochromes étant lié à un atome de cuivre.

Ce sont essentiellement des catalyseurs cellulaires, jouant en même temps le rôle de transporteurs

électriques.

. Par ailleurs, la tryosinase ou polyphénoloxydase est l'enzyme responsable de la formation des pigments marron et rouge de la mélanine, qui affecte la peau, les yeux et les membres des animaux au cours de l'équilibre phylogénétique ; ceci est utilisé par les éleveurs d'animaux à toison et à fourrure et aussi par les dermatologues. Son action est intimement liée à la présence des atomes du cuivre dans sa molécule, bien que le cuivre n'occupe pas la position de son site actif.

. Le cuivre est aussi essentiel pour l'activité enzymatique de la laccase, qui catalyse l'oxydation d'un grand nombre des diamines aromatiques et des diphénols (catécholamines, hydroquinone, la p-phénylène-diamine...). Pendant les réactions catalytiques de la laccase, le cuivre est alternativement réduit par les substrats et oxydé par les molécules d'oxygène.

. L'ascorbate oxydase, encore appelée acide ascorbique oxydase, est une protéine cuprique avec un taux de cuivre s'élevant à 0,34 %, à raison de 8 atomes de cuivre par molécule. Cette enzyme catalyse essentiellement l'oxydation aérobique de la vitamine C.

. La dopamine β hydroxylase, catalysant la conversion de la dopamine en norépinéphrine, est encore une enzyme cuivrique dont le taux en cuivre s'accroît avec son état de pureté ; elle a été isolée de la

médullosurrénale des ruminants.

. Enfin, la plastocyanine, catalysant la photoréduction du N A D P^+ ; la mitochondrylamine oxydase, isolée du foie de boeuf ; la butyrylcoenzyme A déshydrogénase ; toutes sont des enzymes contenant du cuivre dans leurs molécules. Il est indispensable à leurs activité.

- D'autre part, des recherches ont permis d'isoler des protéines tissulaires possédant une large proportion en cuivre, mais n'ayant pratiquement pas d'activité enzymatique. Dans ce dernier groupe on rassemble :

. la cérébrocuprine contenant deux atomes de cuivre par molécule, isolée dans le cerveau des ruminants ;

. l'hépatocuprine, contenant 0,34 % du cuivre, isolée dans le foie des bovins et des ovins ;

. l'érythrocuprine ou hémocuprine, protéine cuprique des érythrocytes des mammifères, possédant aussi un taux de 0,34 % en cuivre ; elle intervient dans la synthèse de l'hémoglobine.

Par ailleurs, le cuivre est un des métaux activateurs des enzymes intervenant dans le métabolisme lipidique.

Il exerce une action catalytique vis-à-vis de l'insuline ; il permet l'utilisation des doses plus faibles d'insuline lors de diabète.

Il intervient aussi dans l'oxydation catalytique des groupes sulfhydriles transformant la prékératine en

kératine ; ce qui explique que la laine des moutons convenablement nourris puisse être bien supérieure à celle des animaux dont la nourriture est pauvre en cuivre.

Le cuivre possède en plus de son action d'activateur, celle d'inhibiteur de certaines enzymes ; la plus connue étant l'adénosine triphosphatase ou A T P.

Nous porterons notre intérêt sur les variations oligoélémentaires du cuivre en vue d'un éclaircissement des différentes affections qui peuvent en découler.

IMPORTANCE DES VARIATIONS DU CUIVRE EN PATHOLOGIE OVINE

Le cuivre présente des fonctions multiples ; sa carence est susceptible de modifier profondément certaines chaînes métaboliques. Cette carence est surtout manifeste chez le mouton.

Pour cette raison, nous avons considéré qu'il était opportun d'envisager brièvement certains aspects caractéristiques de la pathologie ovine, en rapport avec celle-ci.

Ceci nous paraît important si l'on sait les méthodes d'élevage intensif qui sont devenues règle depuis quelques décennies.

Les causes de ces carences peuvent être soit extrinsèques soit intrinsèques. Nous nous attarderons particulièrement sur les formes extrinsèques car se sont les plus fréquentes et intéressent la majorité du troupeau. Elles peuvent être d'autre part primitives, ne dépendant d'aucune autre affection, formant ainsi une entité clinique spéciale. Nous traiterons donc :

- de la carence ou hypocuprose ;

mais il est possible d'observer aussi des troubles chez les moutons par excès de cuivre. Il s'agit des intoxications cupriques que nous examinerons également.

A - LA CARENCE EN CUIVRE OU HYPOCUPROSE :

La connaissance des carences en cuivre est indispensable pour tous les vétérinaires, agronomes et éleveurs. Toutefois, ceci nécessiterait un développement beaucoup trop long dans le cadre de notre étude et nous nous contenterons de dresser une liste des principaux troubles observés, chez les ovins, d'où découlera l'utilisation thérapeutique de cet oligoélément :

- Troubles osseux : malformations qualitatives et quantitatives.
- Troubles musculaires : amaigrissement, dépérissement organique ;
- Troubles circulatoires : fibrose du myocarde ;
- Troubles sanguins : anémie ;
- Troubles nerveux : ataxie, démyélinisation ;
- Troubles digestifs : dysfonctionnement gastrointestinal, diarrhée ;
- Troubles endocriniens : croissance réduite, chute de laine.

Bien des recherches ont montré que la carence en cuivre existe dans les sols de certaines régions assez limitées ; c'est donc une maladie tellurique, caractérisée principalement par la déficience en certains éléments des tissus animaux. Cette maladie se traduit chez les nouveau-nés ou à la mamelle par une ataxie enzootique dûe à des lésions dégénératives du système

nerveux central ; chez les adultes, elle est caractérisée par une atteinte essentielle de la toison et par des manifestations d'anémie et de la diarrhée.

Du point de vue étiologique on distingue deux catégories de carence qui se manifestent différemment sur le plan clinique :

a - les déficiences simples ; qui sont attribuées à la consommation d'herbes pauvres en cuivre. Les signes de cette déficience apparaissent chez les animaux consommant des plantes dont la teneur en cuivre est au-dessous de la normale : (5 - 6 ppm).

Dans ce cas là, l'apparition du désordre chez les ovins est constante et se traduit chez les adultes par un manque de pigmentation sur les moutons qui produisent normalement de la laine noire sur une partie quelconque du corps, et par une réduction du rendement de la laine qui devient rude, rigide et cassante.

Fréquemment on observe chez ces animaux une diarrhée quasi permanente associée à un mauvais état général typique caractérisé par un amaigrissement progressif, une faiblesse, et un certain degré d'anémie. En dehors de ces symptômes majeurs nous pouvons remarquer aussi chez les adultes des oedèmes, ainsi que des troubles osseux allant jusqu'à l'ostéoporose. Dans cette affection, la conjonctivité et le larmoiement sont très caractéristiques.

Chez les ovins nouveau-nés, l'hypocuprose se traduit essentiellement par une ataxie locomotrice, dénommée "sway back" par les auteurs anglo-saxons. Cette ataxie se manifeste principalement par des troubles nerveux généraux : une diminution des activités psychiques, motrices, sensitives et réflexes ; notamment des troubles locomoteurs d'hypokinésie et d'incoordination.

Ces symptômes sont associés chez les agneaux à une augmentation de la quantité du liquide céphalo-rachidien au niveau de l'encéphale, qui apparaît légèrement oedématié à l'autopsie.

b - déficiences conditionnées ou compliquées par des excès en d'autres éléments minéraux ; (molybdène et l'ion sulfate) ; elles apparaissent chez les animaux qui consomment de l'herbe dont la teneur en cuivre est normale ; la carence est attribuée alors à la présence dans les plantes des facteurs qui influencent ou troublent défavorablement le métabolisme oligo-élémentaire chez les animaux.

Des mesures prophylactiques s'imposent, les éleveurs doivent complémenter les aliments en cuivre organique, surtout pour les ovins en bas âge. D'ailleurs, les complémentations comportent généralement cet élément.

B - LES INTOXICATIONS CUPRIQUES :

L'intoxication du mouton par le cuivre a fait l'objet d'une multitude de recherches dans de nombreux pays. Ainsi, LUKE (F.) et coll. en Allemagne (1970), ont signalé que des accidents mortels surviennent vers la 7e ou 8e semaine chez les moutons alimentés avec de fortes doses de tourteaux, notamment de palmiste et de lin, riches en cuivre. Ils ont noté l'hypersensibilité de la race Texel à cette affection.

Des faits semblables ont déjà été signalés par divers auteurs et confirmés expérimentalement. Ce fut le cas de SCHARPER et LÜTJE, qui ont décrit une maladie à caractère enzootique sévissant sur des animaux paccageant dans des vergers où les arbres avaient été préalablement traités au sulfate de cuivre.

En 1934, BOUGHTON et HARDY reconnurent les premiers un empoisonnement chronique par le cuivre aux Etats-Unis, comme conséquence de l'ingestion continue de mixtures salines contenant du sulfate de cuivre pour la prévention des parasites.

CLEGG (1956) en Angleterre, LEFENETRE, MONTEIL et GALTIER en France, BULL et coll. (1956) en Australie, ALZAHAWI en Irak (1957), WIEMANN (1969) en Allemagne, TODD (1970) aux U. S. A. ainsi que d'autres chercheurs firent des études très détaillées sur le métabolisme du cuivre et l'intoxication cuprique des moutons, spécialement en rapport avec une affection connue sous divers noms :

ictère hémorragique, jaunisse toxémique...

Cette affection se présente sous deux formes cliniques :

- l'empoisonnement aigu, résultant de l'ingestion d'une quantité massive de sel cuivrique ; cette forme est devenue un cas rare et accidentel à l'heure actuelle, étant donné l'arrêt d'utilisation des sels de cuivre comme anthelmintiques.

Néanmoins, dans cette forme aiguë la mort survient brutalement par syncope cardiaque ; le cuivre ayant irrité aussi la muqueuse de tout le tube digestif, entraîne une forte gastro-entérite et une sidération du myocarde.

Quant à la forme chronique, elle a été décrite chez les moutons et l'on note deux phases : La première, d'accumulation du cuivre dans le foie, peut durer plusieurs mois. Les sujets ne présentent aucune anomalie. La seconde se traduit par une crise hémolytique, c'est la phase toxique avec des signes cliniques graves se terminant souvent par la mort. Todd en a noté l'étiologie :

"Naturellement la maladie est due à des herbages poussant sur des sols très pauvres en molybdène ou encore à certains alcaloïdes hépatotoxiques des héliotropes (héliotropum europaeum). La teneur de ces pâturages en cuivre n'est pas exagérée."

L'ictère est le signe clinique principal qui se double d'altérations de l'hémoglobine se transformant en méthémoglobine avec une baisse de glutathion des erythrocytes et une élévation des transaminases et des déshydrogénases sériques. Il y a une forte hémolyse expliquant la jaunisse.

Boughton et Hardy trouvèrent une moyenne de 1000 ppm (extrait sec) dans des cas cliniques d'intoxication chronique. Albiston et coll, en trouvèrent une moyenne de 1600 ppm, alors que la moyenne des témoins n'est que de 50 ppm. Le taux élevé du cuivre sanguin 2 jours environ avant la mort est aussi une aide confirmant le diagnostic.

C - Notre étude serait incomplète si nous devions laisser dans l'ombre les variations cupriques reconnues et dosées dans certaines autres maladies. En effet les recherches analytiques d'éminents auteurs notamment P. J. Mac Cosker (1968) ont permis de constater des teneurs oscillant largement autour du taux normal du cuivre sérique chez les ovins :

Tableau de P. J. Mac Cosker montrant les taux de cuivre dans le sang total et le plasma en pathologie ovine.

	Cu dans sang total ppm	Cu dans plasma ppm	Maladie
Maladies infectieuses			
1	2.03	2.30	Arthrite aiguë
2	1.44	1.66	" "
3	0.97	0.89	Arthrite
4	1.78	2.64	Plaies infectées
5	1.55	2.45	Méningite fibrineuse
6	0.88	0.91	Entérotoxémie
7	0.97	1.06	Paratuberculose
8	1.07	1.06	Nécrose du cortex cérébral
9	0.98	1.00	" " "
10	1.69	1.78	" " "
11	1.60	1.70	Panaris interdigité (piétin)
12	1.42	1.58	"
13	1.16	1.32	"
14	1.31	1.38	"
15	1.27	1.27	"
Maladies parasitaires			
16	1.06	1.00	Coénurose cérébrale
17	1.50	1.67	"
18	0.87	0.89	Distomatose chronique
19	0.56	0.91	Distomatose aiguë
20	1.20	1.33	Trichostrongylose
21	1.37	1.29	"
22	1.91	2.31	"
23	1.28	1.26	"
24	0.55	0.27	Hémoncose chronique
25	0.54	0.42	"
Maladies métaboliques			
26	1.17	1.81	Hypocalcémie
27	0.98	1.55	"
28	1.42	1.53	Hypomagnésémie
29	1.01	1.06	Toxémie de la gestation

A la lumière de ces différents renseignements, nous remarquons que la frontière, entre le taux normal du cuivre et les taux pathologiques, est mal définie. Alors pour mettre à profit les résultats obtenus à la suite de cette étude, il est nécessaire de les comparer aux valeurs normales. De ceci jaillit le souci d'un dosage précis et efficace du cuivre sérique ; dosage qui nous permettra peut être de préciser cette frontière.

D'autre part les fluctuations statistiques d'un individu à l'autre obligent de déterminer, en plus de la valeur moyenne, la dispersion autour de cette valeur (valeurs extrêmes et écart type ou variance). Interviennent aussi les fluctuations dues aux choix des méthodes et aux erreurs qu'elles entraînent.

Pour limiter cette dernière source d'erreur, nous avons choisi, parmi les nombreuses techniques existantes, celle qui nous a paru la plus apte pour ce dosage, à savoir

La spectrophotométrie par absorption atomique.

Nous relaterons, dans la deuxième partie de ce travail, nos observations réalisées expérimentalement par cette méthode, mais auparavant, nous ferons un bref rappel de son principe.

DEUXIEME PARTIE

Application de la spectrophotométrie d'absorption atomique au dosage du cuivre sérique chez les ovins.

A - Technologie ;

B - Résultats expérimentaux.

A - TECHNOLOGIE

Au siècle précédent, en 1816, MEISSNER fit connaître la présence du cuivre dans un grand nombre de végétaux mais ne put le doser. SARSEAU, en 1830, perfectionna la technique analytique et estima la teneur en ce métal. Il a fallu attendre le début du XXe siècle pour voir apparaître la nouvelle expression d'oligo-éléments.

En effet, J. RAULIN et G. BERTRAND, pionniers de la biochimie des éléments qu'ils appellent "mineurs", prirent en considération tous les métaux signalés çà et là en petite quantité dans l'organisme ; leur travail est magnifiquement exposé par JAVILLIER dans son livre "Les éléments chimiques du monde vivant".

De cette oeuvre initiale, des recherches analytiques naquirent pour affirmer la grande place que mérite l'étude des éléments biogènes.

On a tendance actuellement à mettre au point une technique suppléant à d'autres méthodes plus anciennes, celle-ci devant particulièrement répondre aux exigences souvent très pointilleuses des travaux actuels.

Cette méthode doit être :

- assez sensible, pour déceler un élément réparti en quantité minime ;
- assez précise, pour tester des modifications de concentrations d'amplitude très variable ;

- assez rapide et d'une mise en oeuvre assez simple pour multiplier les résultats expérimentaux et le contrôle, voire permettre la statistique tout en s'adressant à des milieux aussi complexes que les liquides biologiques.

C'est grâce à la connaissance de la spectrophotométrie d'absorption atomique et à des améliorations récentes et importantes dans l'appareillage, que les chercheurs ont pu songer à utiliser cette méthode pour relater leurs recherches en ce qui concerne la biologie des oligo-éléments.

Cette méthode vit maintenant sa 15e année depuis que WALSH a publié, en 1955, les premiers résultats de ses études instrumentales dans ce domaine.

Le phénomène d'absorption atomique est connu depuis longtemps. En effet, c'est en 1819 que J. FRAUNHOFFER a décrit dans le spectre solaire, la présence de raies noires au centre de certaines raies lumineuses.

Plus tard, en 1859, KIRCHHOFF et BUNSEN, en Allemagne, FOUCAULT en France, réalisèrent la première expérience d'absorption atomique en mettant en évidence le phénomène de "renversement des raies".

Cette expérience est à la base de la règle exprimée par KIRCHHOFF : "Un corps soumis à certaines conditions d'excitation ne peut émettre que des radia-

tions qu'il est susceptible d'absorber".

Les conceptions actuelles attribuent à cette règle une interprétation électronique. Ainsi, les atomes, portés à une certaine température, peuvent subir une excitation thermique qui projette un électron périphérique de son orbite normale sur une orbite plus externe.

L'état énergétique de l'atome passe ainsi du niveau fondamental E_0 à un état instable E_1. En retombant sur son orbite normale, l'électron périphérique libère une quantité d'énergie lumineuse de fréquence ν telle que $E_1 - E_0 = h\nu$, h étant la constante de PLANCK. Si on éclaire la même vapeur atomique avec une radiation d'intensité L et de fréquence ν, les atomes restés à l'état fondamental E_0 absorbent cette radiation en passant à l'état E_1. En observant la lumière dans l'axe du faisceau primaire, on constate par conséquent une diminution de L. C'est le principe de la photométrie d'absorption atomique.

La lumière ordinaire (L. Blanche) est la résultante de toute une série de radiations dites monochromatiques, c'est-à-dire caractérisée par une longueur d'onde bien déterminée.

On examinera la destinée de E_L lorsqu'elle est reçue par une solution :

a) L'E_L (ou mieux du rayonnement) reçue est monochromatique ; son quantum énergétique est représenté par la relation de PLANCK : $E\Delta E = h\nu$

Si I_0 est l'intensité du rayonnement incident, l'expérience montre qu'à la sortie, l'intensité est plus faible. I. la différence $I_0 - I$ a été absorbée par la solution, et la lumière transmise d'intensité I a la même longueur d'onde que I_0.

Le mot absorption signifie qu'il y a eu incorporation d'énergie au sein des molécules absorbantes ; cette énergie peut servir :

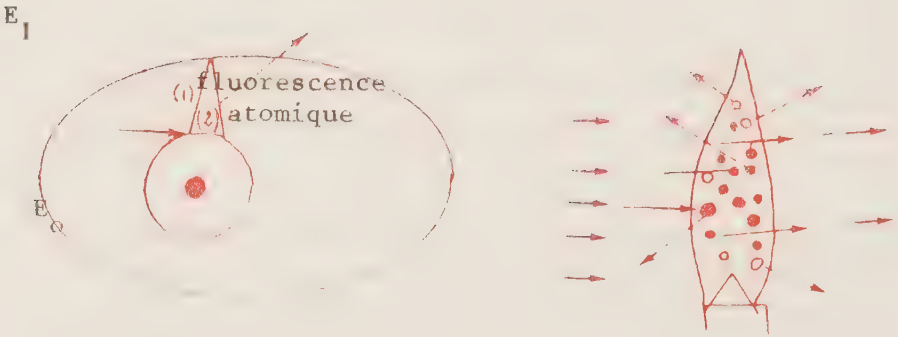
1) à chauffer le milieu absorbant ce qui est au fond l'absorption proprement dite et équivaut pratiquement à un gaspillage d'énergie.

2) à produire une activation, des molécules absorbantes, leur conférant l'énergie suffisante pour se transformer, c'est-à-dire donner naissance à une réaction chimique de photolyse ou d'isomérisation.

3) à produire une "photosensibilisation", l'énergie reçue par les molécules absorbantes est transférée à d'autres molécules présentes dans le milieu et devenant de ce fait aptes à se transformer (cas de la photosynthèse).

4) à donner naissance à un nouveau rayonnement de longueur d'onde généralement supérieure à celle du rayonnement incident (photoluminescence). La figure 1 schématise ces différents phénomènes à l'échelle de l'atome et à celle de la flamme.

b) Si l'on reçoit sur une solution un faisceau de radiations polychromatiques, l'absorption n'est généralement pas la même pour chaque radiation de sorte que le faisceau transmis est inégalement affaibli ; on observera généralement une absorption sélective pour certaines longueurs d'onde, absorption qui est souvent caractéristique de la solution. La détermination des zones de longueur d'onde dans lesquelles se fait cette absorption sélective constitue la spectrophotométrie d'absorption.



phénomène de l'absorption atomique

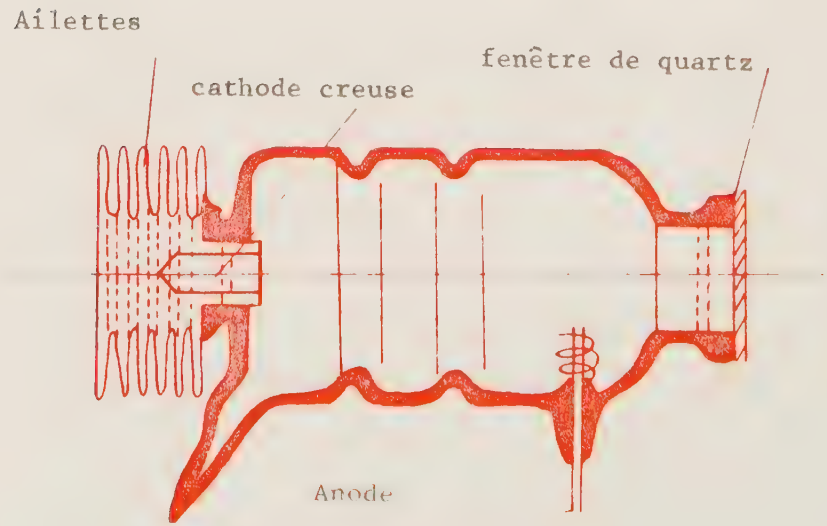


Fig 1 - Lampe à cathode creuse externe
(coupe longitudinale)

Au lieu d'examiner visuellement le spectre, affaibli dans certaines régions, on peut remplacer l'oeil par une plaque photographique ; on obtient alors un spectrogramme qui peut s'étendre aux régions ultra-violettes si le faisceau incident est suffisamment riche en ultra-violets.

Généralement on n'opère pas de cette façon : on disperse le faisceau à l'entrée, (au moyen d'un monochromateur) et c'est pour chaque longueur d'onde ainsi isolée que l'intensité transmise est mesurée ; ce qui nécessite en outre l'emploi d'une cellule photoélectrique.

Les courbes ainsi obtenues sont très caractéristiques. Comme beaucoup de substances d'intérêt biochimique donnent des solutions incolores (c'est-à-dire n'absorbent pas les radiations visibles) mais par contre sont absorbantes dans l'U. V. ; il convient d'étudier l'intensité transmise en fonction de la longueur d'onde au-delà et en deçà du visible, ce qui constitue la spectrophotométrie IR et UV.

Après ce rappel général, nous allons examiner plus particulièrement la spectrophotométrie d'absorption atomique telle que nous l'avons utilisée.

LA SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

PRINCIPE :

La spectrophotométrie consiste donc, d'après ce qui précède, à mesurer au moyen d'une cellule photoélectrique, l'intensité de lumière transmise par un liquide, en fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente ; la méthode consiste donc à envoyer successivement sur le liquide des radiations aussi monochromatiques que possible et à mesurer chaque fois l'intensité de la lumière transmise.

APPAREILLAGE ET TECHNIQUE :

a) caractéristiques générales :

Chaque élément possède un spectre caractéristique d'absorption, ses raies d'absorption sont identiques à certaines de ses raies d'émission. Elles sont donc également désignées sous le nom de raies de résonance. Pour pouvoir définir un élément aussi bien qualitativement que quantitativement, il faut donc disposer d'une source de rayonnement qui présente au moins une raie d'émission à la fréquence d'une raie d'absorption de l'élément à déterminer. Il existe de telles sources de rayonnement pour presque tous les éléments métalliques et pour quelques éléments non métalliques, sources qui sont constituées par des lampes à cathode creuse. Dans une telle lampe, le spectre d'absorption d'un élément est produit par excitation électrique de ses atomes. Pour chaque élément, il est

généralement nécessaire de disposer d'une lampe à cathode creuse particulière ; il existe toutefois également, depuis peu des lampes multiples, pour plusieurs éléments.

La figure 2 représente le trajet des rayons lumineux lors de la mesure de l'absorption atomique. Le rayonnement émis par la lampe à cathode creuse (2-9) est modulé par le diaphragme oscillant (2-8) sous la fréquence du réseau et traverse à trois reprises la flamme (2-6) avant de parvenir, par l'intermédiaire du monochromateur (2-2), au récepteur photoélectrique (2-1). Ce dernier transforme l'intensité du faisceau en un signal électrique dont l'amplitude peut être lue sur l'appareil indicateur (2-12) et constitue une mesure de l'intensité du rayonnement.

Au cours de la traversée de la flamme à trois reprises, par le rayonnement de la lampe à cathode creuse, une fraction déterminée de l'intensité initiale de ce rayonnement est absorbée. Cette fraction dépend de la longueur d'onde, de la température de la flamme, ainsi que de la nature et de la concentration de l'élément présent dans cette flamme. La longueur d'onde du rayonnement qui doit parvenir au récepteur photoélectrique (2-1) peut être réglée sur le monochromateur.

Le dosage d'un élément est effectué par mesure de la densité optique ou extinction de la flamme qui contient cet élément, comparativement à l'extinction de la flamme pure que l'on définit par E = 0.

A partir de l'extinction de la flamme, il est alors possible de déterminer la concentration de l'échantillon.

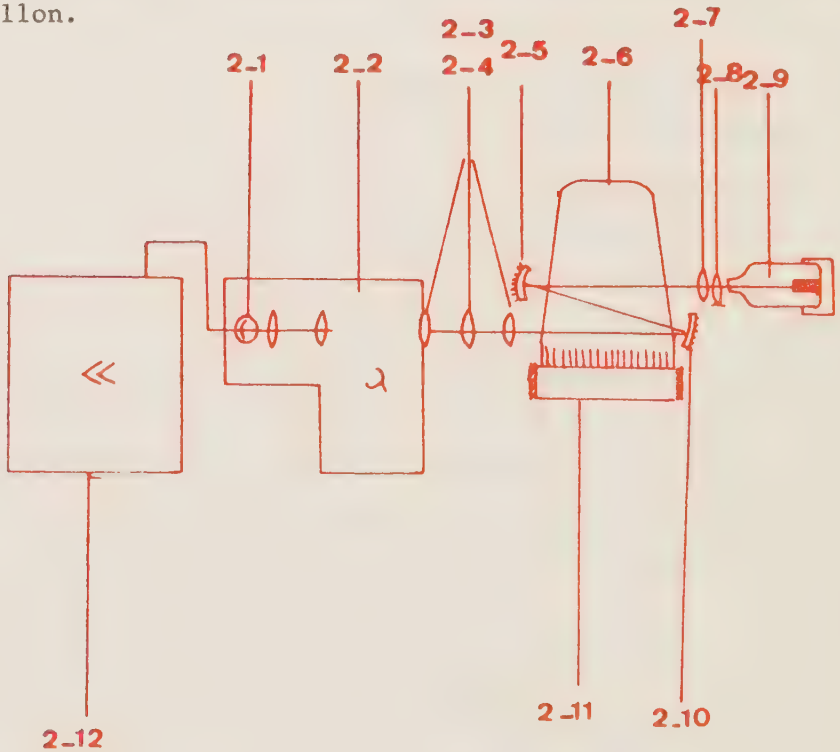


Fig.2-Trajet des rayons lumineux dans la mesure de l'absorption atomique.

2-1	Récepteur photoélectrique
2-2	Monochromateur
2-3, 2-4, 2-7	Lentilles
2-5	Miroir concave
2-6	Flamme
2-8	Diaphragme oscillant
2-9	Lampe à cathode creuse
2-10	Miroir concave
2-11	Brûleur
2-12	Appareil indicateur

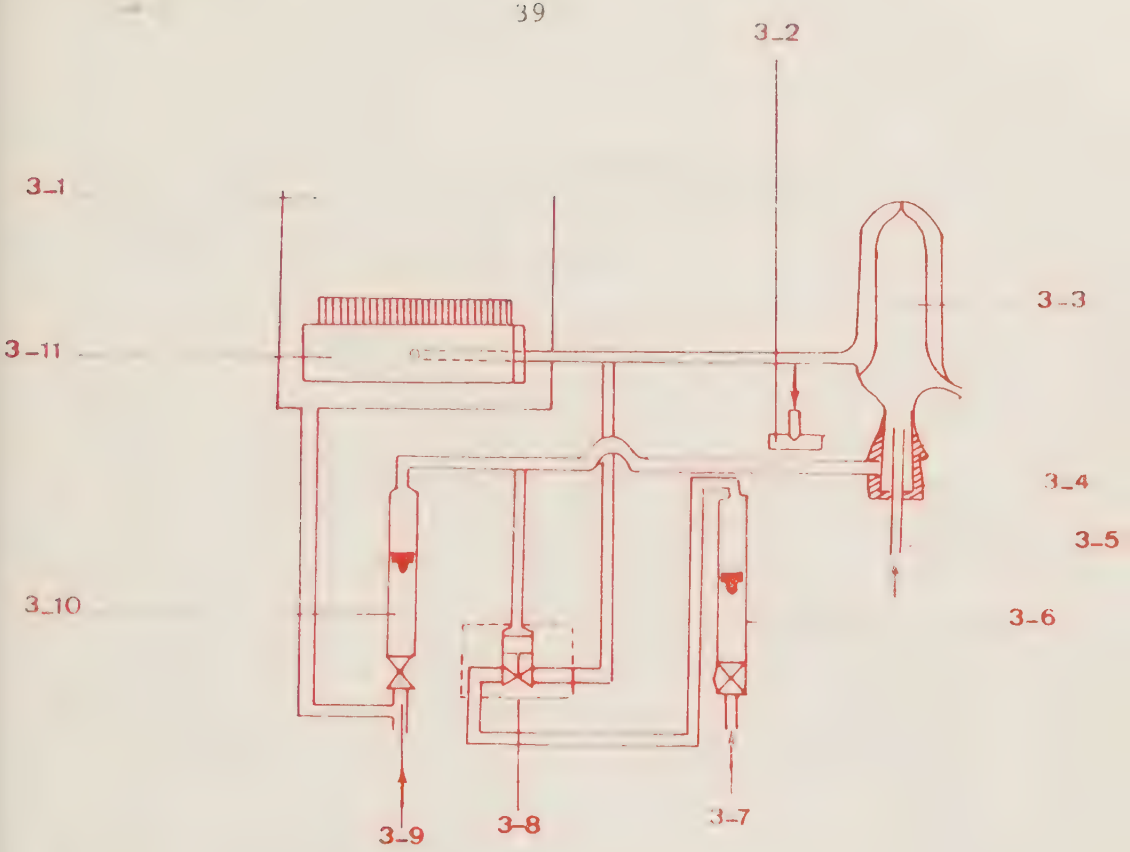


Fig.3-Circuit de gaz dans le photomètre de flamme

3-1	Chambre de combustion
3-2	T pour l'emploi du protoxyde d'azote
3-3	Chambre de pulvérisation
3-4	Buse de pulvérisation
3-5	Entrée de l'échantillon
3-6	Débimètre pour le gaz avec soupape de réglage
3-7	Entrée du gaz combustible
3-8	Relais de gaz combustible
3-9	Entrée de l'air
3-10	Débimètre pour l'air, avec soupape de réglage
3-11	Brûleur.

b) Production de la flamme :

Dans l'emploi d'un photomètre l'intérêt porte non seulement sur le principe de la mesure, mais aussi sur le mode de production de la flamme, car c'est de ce mode de production que dépendent le degré de dissociation et l'amplitude de l'excitation thermique.

Le gaz combustible, parvient par l'intermédiaire d'un débimètre et d'un relais (3-8) à gaz combustible, dans le brûleur (3-11). L'air traverse un autre débimètre (3-10) et parvient par la buse de pulvérisation (3-4) dans la chambre de pulvérisation (3-3) ; de là, il parvient également au brûleur. L'air et le gaz combustible sont mélangés avant l'entrée du brûleur.

Une autre tuyauterie assure une arrivée d'air additionnel dans la chambre de combustion (3-1) ; cet air alimente la flamme en oxygène à partir de l'extérieur, ce qui permet d'éviter la pollution par la flamme, de l'air du laboratoire.

Le relai de gaz combustible est commandé par la pression de l'air. Le choix du gaz combustible dépend du problème d'analyse à résoudre. La température de la flamme augmente dans l'ordre des mélanges ci-après :

propane - air
hydrogène - air
acétylène - air
acétylène - protoxyde d'azote - air.

On prévoit des températures de flamme élevées pour les substances difficilement dissociables et excitables.

c) Matériel et technique utilisés :

Instrument	: Spectrophotomètre Beckman
Lampe	: Cu - Ne à cathode creuse (1o mA - 2o mA) courant d'utilisation : 14 mA.
Fente	: 0.05 + 0.045 = 0.095 mm
Mode d'opération	: à chaud
Mode de passage	: Triple
Type de flamme	: pauvre
Mélange gazeux	: Air (18 psi) - Acétylène (5 psi).
Longueur d'onde	: 3248 A°.

d) Préparation des échantillons :

Les échantillons du sang sont récoltés à l'abattoir de Toulouse juste au moment de la saignée, recueillis dans des tubes spéciaux de 10 ml enduits d'un anticoagulant (héparinate de lithium).

Plusieurs prises de sang ont été faites alternativement sur des agneaux de 3 à 4 mois et sur des moutons de boucherie. Ceci pour vérifier, parallèlement au but de notre étude si l'âge influe sur le taux cuprique chez les ovins.

Les échantillons sont alors centrifugés à 12000 tours minute pendant une dizaine de minutes. Le sérum est ensuite dilué au 1/40 dans de l'eau bidistillée.

e) Etalonnage :

Solutions Etalons (SE) : Solution standard "Beckman" dosée à 1.000 ppm de cuivre par 100 ml.

Solution mère (SM) : 0.1 ml (DE) par 10 ml --- 10 ppm

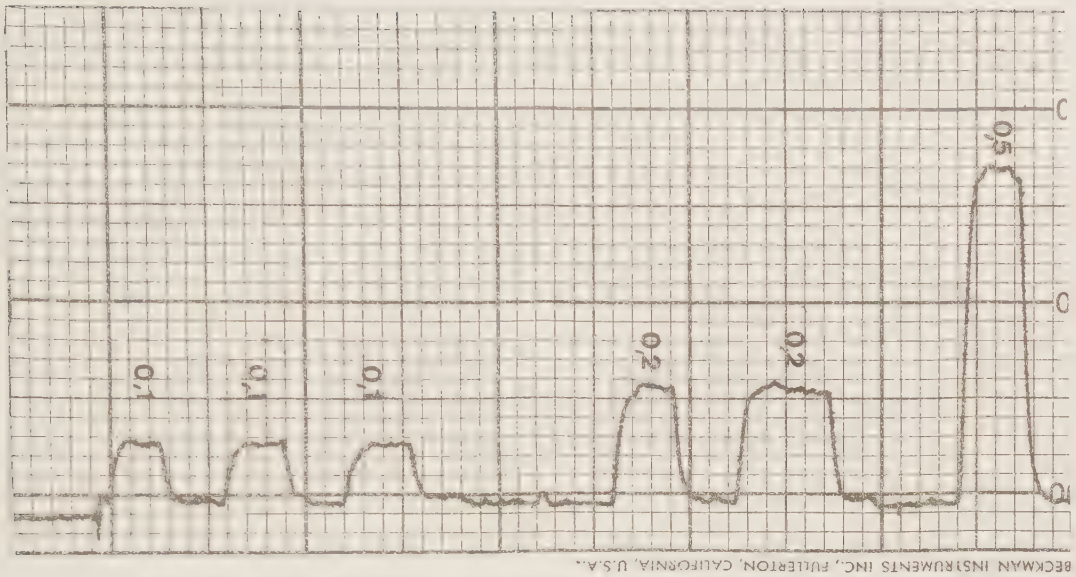
Solutions filles : a) 1 ml (SM) complété à 100 (ED) = 0.1 ppm

b) 2 ml (SM) complétés à 100 (ED) = 0.2 ppm

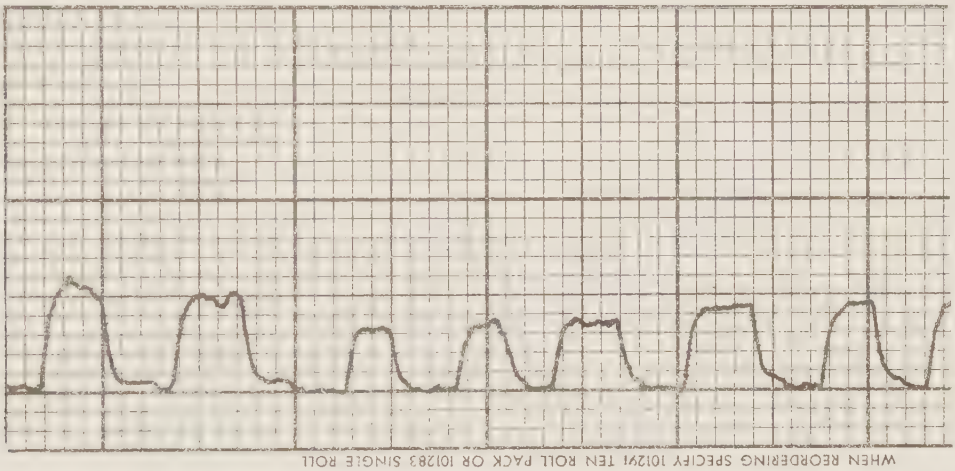
c) 2,5 ml (SM) complétés à 100 (ED) = 0.25 ppm

d) 2,5 ml (SM) complétés à 50 (ED) = 0.5 ppm

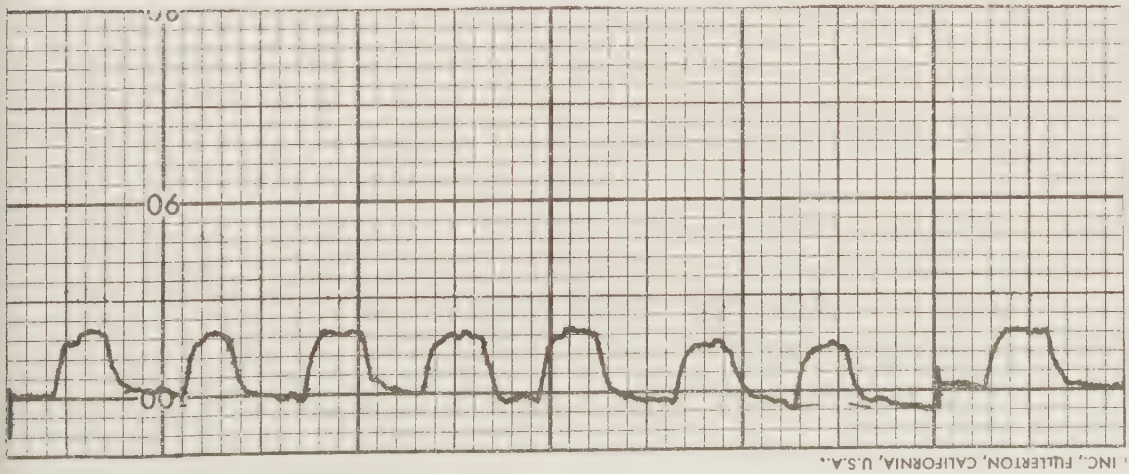
Pour que la courbe d'étalonnage soit juste, les pics correspondants à ces différentes valeurs doivent être directement proportionnels entre eux. La droite obtenue en traçant cette courbe sur un papier semilogarithmique montre bien cette proportionnalité.



BECKMAN INSTRUMENTS INC., FULLERTON, CALIFORNIA, U.S.A.



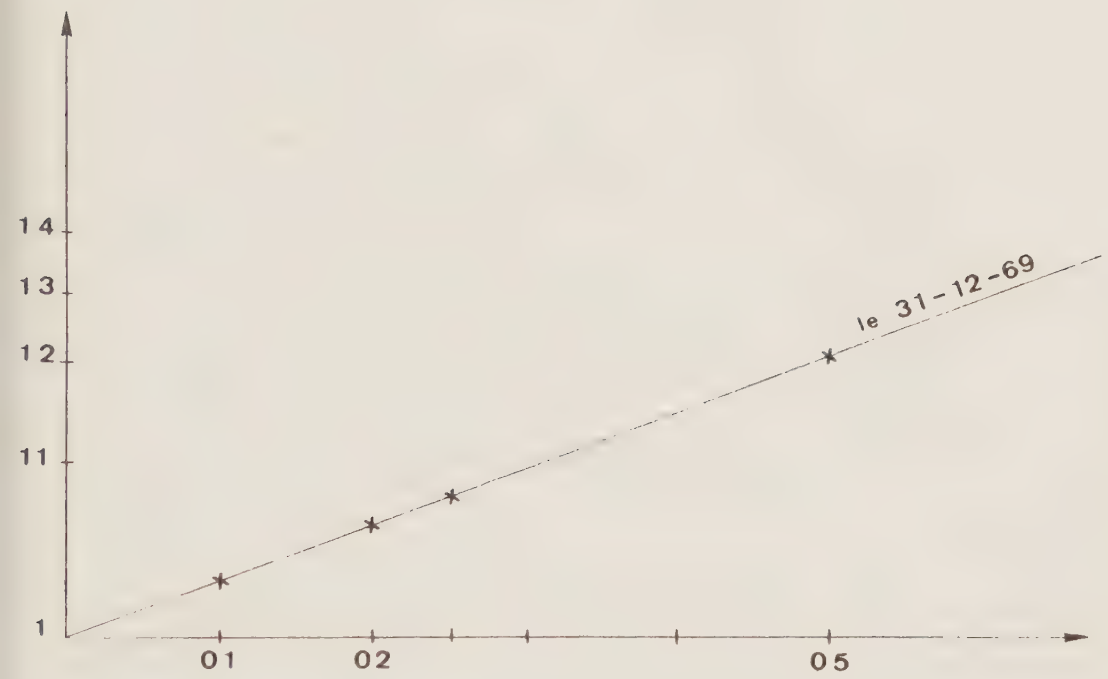
WHEN REORDERING SPECIFY 10294 TEN ROLL PACK OR 10283 SINGLE ROLL



INC., FULLERTON, CALIFORNIA, U.S.A.

Dosage du cuivre sérique (sérum de mouton d

ilué au 1/10e). Courbe d'étalonnage.



f) Précision des mesures :

L'absorption atomique étant une mesure relative, la justesse des résultats obtenus dépendra étroitement de l'exactitude des étalonnages. En raison de phénomène d'interférences, la justesse sera d'autant meilleure que solutions étalons et solutions d'analyse auront des compositions plus voisines.

Ces interférences étant attribuées à la composition très complexe des liquides biologiques. Le

sérum ovin, par exemple, contient 75.000 mg/l de protéïnes dans lesquels se dissimule très facilement le taux de 1 mg/l. du cuivre.

La précision des résultats est fonction :

- de la stabilité des lampes,
- de la stabilité des débits gazeux, donc de la flamme,
- de la sensibilité de l'appareillage,
- de la finesse de lecture, en particulier de la méthode utilisée, (directe, enregistrée ou numérique).
- de l'élimination des interférences.

B - RESULTATS

Après préparation de l'appareil et des échantillons, ces derniers au nombre de 156 sont passés au brûleur, et ont donné des pics correspondants à des valeurs déterminées par la courbe d'étalonnage.

La hauteur des pics est ensuite transformée en mesure de l'absorbance suivant la formule suivante :

$$\text{Absorbance} = \log \frac{100}{100 - \%\text{absorption}}$$

(le rapport d'absorption est égal à la hauteur du pic).

Les résultats trouvés sont mentionnés dans les tableaux pages suivantes.

Moyenne des échantillons :

C'est la moyenne arithmétique des valeurs de la distribution :

$$\bar{X} = \frac{\sum X_i}{N} \quad \begin{matrix} = 1.291 \text{ ppm (Agneaux)} \\ = 1.232 \text{ ppm (Moutons)} \end{matrix}$$

Variance et écart type :

L'écart type σ est la racine carrée de la variance, c'est-à-dire la racine carrée de la moyenne arithmétique des carrées des écarts par rapport à la moyenne.

$$\sigma = \sqrt{V} = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N}} = 0.257$$

Coefficient de variation :

Le coefficient de variation est égal au rapport entre l'écart type et la moyenne, exprimé en pourcentage :

$$cV = \frac{100\sigma}{\bar{X}} \quad \text{en } \% = 19,5 \%$$

Erreur type :

L'erreur type d'une moyenne est égale au rapport entre l'écart type obtenu sur un échantillon et la racine carrée du nombre N d'observations contenues dans cet échantillon.

$$r = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} = 0.025$$

AGNEAUX

N°	mg/l	N°	mg/l
1	1.062	28	1.116
2	1.062	29	1.309
3	0.862	30	0.654
4	1.948	31	1.386
5	1.062	32	1.116
6	1.062	33	1.116
7	1.655	34	1.062
8	1.062	35	1.232
9	1.232	36	1.062
10	1.062	37	1.062
11	1.062	38	0.939
12	1.601	39	1.694
13	1.694	40	1.601
14	1.463	41	1.247
15	1.247	42	1.232
16	1.601	43	1.062
17	1.232	44	1.309
18	1.694	45	1.116
19	1.309	46	1.062
20	1.371	47	1.232
21	1.601	48	1.786
22	1.247	49	1.232
23	1.062	50	1.786
24	1.386	51	1.062
25	1.232	52	0.862
26	1.062	53	0.862
27	0.939		

MOUTONS ADULTES

N°	mg/l	N°	mg/l
1	1.544	27	0.862
2	1.062	28	1.732
3	1.116	29	1.062
4	1.116	30	1.062
5	1.062	31	1.062
6	1.116	32	0.862
7	1.116	33	1.247
8	0.939	34	1.601
9	1.062	35	1.463
10	1.062	36	1.371
11	1.062	37	1.062
12	1.062	38	1.062
13	1.116	39	1.371
14	0.847	40	1.601
15	1.232	41	1.232
16	1.062	42	1.062
17	0.654	43	1.116
18	1.309	44	1.371
19	1.116	45	1.116
20	0.939	46	1.463
21	1.062	47	1.062
22	2.002	48	2.002
23	1.694	49	1.116
24	1.544	50	1.116
25	1.208	51	1.371
26	1.655	52	1.232

MOUTONS ADULTES

N°	mg/l	N°	mg/l
53	1.062	79	1.116
54	1.062	80	1.694
55	1.247	81	1.232
56	1.232	82	0.645
57	1.116	83	1.062
58	1.062	84	1.062
59	1.062	85	1.062
60	1.062	86	1.062
61	1.601	87	1.232
62	1.232	88	0.939
63	1.116	89	0.645
64	1.062	90	1.247
65	1.062	91	0.939
66	1.655	92	1.062
67	1.062	93	2.002
68	1.685	94	1.232
69	1.232	95	1.232
70	1.116	96	1.062
71	1.062	97	1.116
72	1.116	98	1.062
73	1.232	99	1.116
74	1.062	100	1.116
75	1.062	101	1.232
76	1.062	102	1.062
77	1.232	103	1.247
78	1.463		

Histogramme de fréquence et Mode :

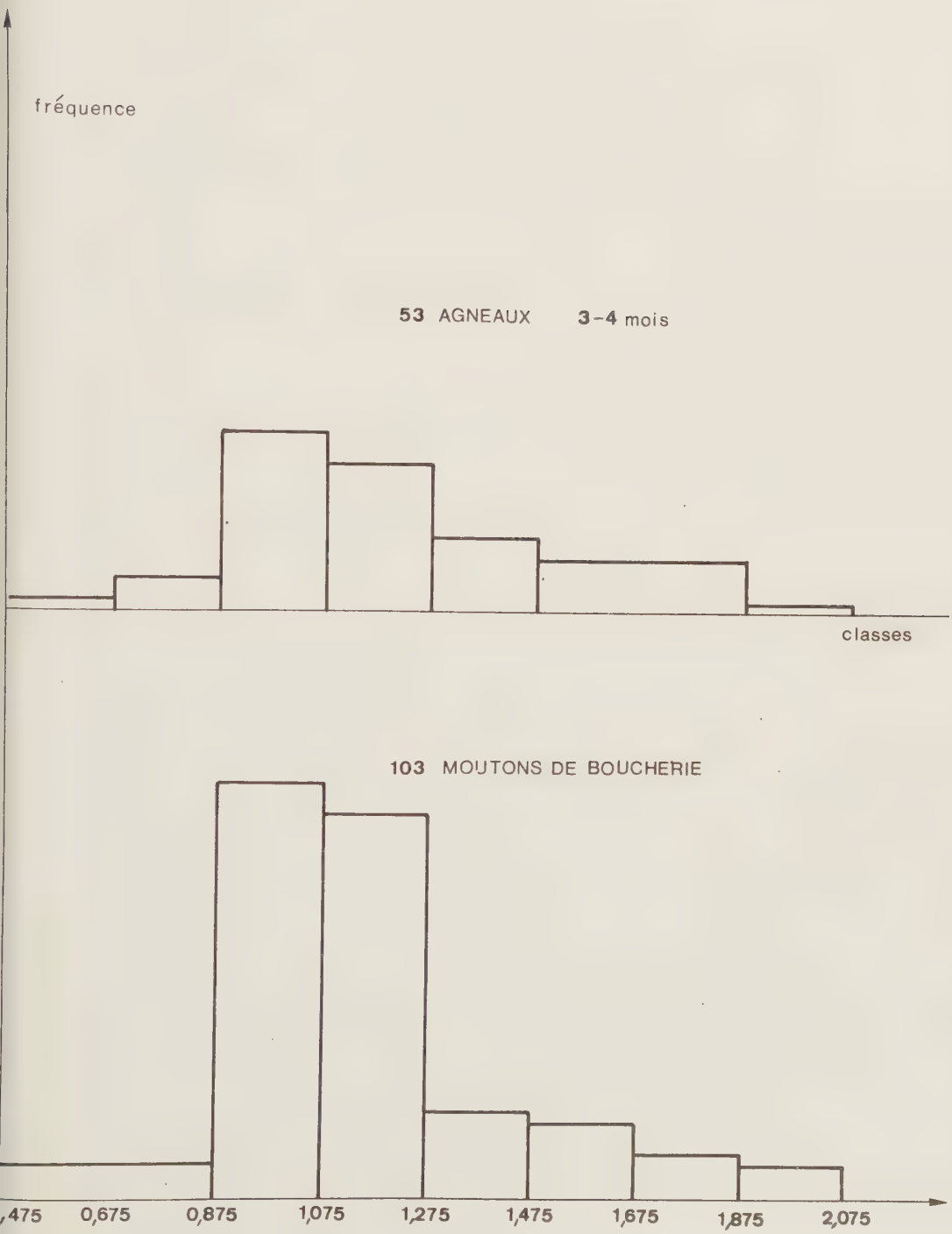
Dans l'histogramme les éléments de la variation sont découpés en rectangles dont la base correspond à un intervalle de classe (voir schéma) et la hauteur à la fréquence de la classe.

Le mode ou valeur dominante, D, est la valeur de la variable pour laquelle la fréquence est la plus élevée. Il correspond donc au sommet de la courbe de fréquence.

Les dosages effectués sur un grand nombre d'échantillons (156) ne sont que relativement significatifs, ils montrent que le taux de cuivre peut varier de 0,5 à 2 mg/l ce qui explique l'écart type assez important. Cependant en examinant l'histogramme de fréquences on s'aperçoit que 75 % des résultats se trouvent pour des taux variant de 0.875 à 1.275 mg/l, avec un mode D pour la classe 0.875 - 1.075 mg/l.

Résultats antérieurs :

Comme nous l'avions noté, au début de notre thèse, de nombreux analysistes ont dosé le cuivre dans les différents organes et tissus du corps animal. En ce qui concerne le cuivre sérique chez les ovins, nous avions porté notre attention sur les 6 analyses biochimiques effectuées sur ce sujet par Mac Pherson & Hemingway en 1969 ; les autres études des différents chercheurs ont donné des résultats pareils :


fréquence
53 AGNEAUX 3-4 mois
classes
103 MOUTONS DE BOUCHERIE
,475
0,675
0,875
1,075
1,275
1,475
1,675
1,875
2,075

Ainsi, le tableau suivant exprime la concentration du cuivre trouvée par ces auteurs, et les analyses ayant été effectuées dans des conditions très semblables aux notres :

A	B	C	D	E	F
0.61-1.57	0.98-1.49	1.09-1.44	0.88-1.36	0.71-1.44	0.76-1.26

Un autre tableau, encore plus significatif, celui de P. J. Mac Cosker (1968), met au point la distribution du cuivre dans le sang total et le plasma des ovins de différents âges :

Nombre d'observations		Cu p.p.m. sang total	Cu p.p.m. plasma total
Adultes	9	0.98±0.14	1.02 ± 0.11
Foetus	10	0.45±0.17	0.26 ± 0.08
Agneaux nn	15	0.67±0.15	0.50 ± 0.16
Agneaux nn	5	0.83±0.12	0.63 ± 0.09

Ces déterminations donnent d'une façon à peu près constantes des concentrations très peu différentes entre les trois liquides, sang, plasma et sérum, ce dernier ayant cependant des valeurs un peu supérieures à celles trouvées dans les deux autres.

Expression des résultats :

Les résultats obtenus par nos dosages spectrophotométriques se rapprochent étroitement de ceux trouvés antérieurement.

Il semble que le taux de 1,06 ppm rencontré fréquemment dans nos dosages soit sensiblement égal au taux du cuivre sérique reconnu mondialement, ce dernier ayant pour valeur moyenne 1,08 ppm.

Toutefois, la concentration du cuivre dans le sérum, comme nous l'avons indiqué, subit des variations assez amples dépendant de plusieurs facteurs.

Il ne semble pas que le sexe ou l'âge, tout au moins pour les adultes, influence le taux de la cuprémie. Les facteurs déterminants semblent être des facteurs de rétention individuels, ce qui pourrait expliquer l'important coefficient de variation.

CONCLUSIONS

Aujourd'hui, la spectrophotométrie d'absorption atomique, remarquable par les performances atteintes, devient un instrument de recherche indispensable, et prend sa place réelle, celle d'une technique sensible et commode de détermination des cations dans les milieux biologiques.

A ses qualités essentielles, s'ajoutent les avantages suivants :

- Possibilité d'analyser directement la plupart des solutions, sans extraction sélective ou minéralisation préalable ;
- Possibilité de rendre automatiques des mesures de réalisation simple, dans tous les cas où une dilution suffit ;
- Rapidité d'exécution : de l'ordre de quelques minutes de travail effectif par dosage.

Ainsi, la spectrophotométrie d'absorption atomique, nous a permis facilement, grâce à ses qualités précitées, de déterminer le taux du cuivre dans le sérum sanguin des petits ruminants.

Il est hors de doute que les possibilités actuelles et les améliorations prévisibles donneront le moyen d'approfondir nos connaissances encore bien élémentaires sur le métabolisme et le rôle des éléments minéraux, oligoéléments en particulier.

Notre intérêt pour le cuivre est fondé sur le choix d'un élément trace que nous avons pensé majeur, vu son rôle essentiel dans tout organisme vivant.

Quant à l'application de cette étude aux ovins, ceci découle du fait que notre travail pourra nous éclairer sur la pathologie de ces animaux qui représentent dans l'élevage de notre pays, Le LIBAN, le cheptel le plus important.

Vu : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

A. RICO

Vu : Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire

R. FLORIO

Vu : Le Président de la Thèse

DOUSTE-BLAZY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 29-9-1971
Le Président de l'Université
Paul Sabatier

L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

1 - AL ZAHAWI Sh. - Am. J. vét., 18-861.

2 - BENEZECH Ch. (1964) - physico-chimie biologique et médicale - page 267.

3 - BOUGHTON ET HARDY - Chronic copper poisoning in sheep, Texas-Agr. Expt. Sta. Bull. 499, Dec 1934.

4 - BRAND Roger (1937) - Thèse de doctorat vétérinaire Toulouse.

5 - CHIOTIS DEMETRE (1956) - l'hypocuprose des ruminants domestiques ; Thèse de doctorat vétérinaire. Toulouse.

6 - CUNNINGHAM I. J. (1954) - Copper déficiency in cattle and sheep. New Zealand. J. Agr. 88:369-374.

7 - EDEN Alfred (1940) - Observations on copper poisoning. J. comp. pathol. Thérap. 53:90-111.

8 - GOUDOT A. et BERTRAND D. (1968) - Les oligoéléments, collection que sais-je n° : 1010.

9 - GRAY J. M. (1969) - Absorption determ. of sérum Mg. Flame notes 4,2. Beckman Instruments.

10 - LEFENETRE H. MONTEIL L. et GALTIER F. (1946) - Revue de médecine vétérinaire t. 97, mai, page 215.

11 - LUKE F. et WIEMANN H. - Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift (1970), 83,253-255.

12 - MAC COSKER P. J. (1968) - Res. vet. Sci. 9,91-101

13 - MAC PHERSON et HEMINGWAY (1969) - Brit. vét. Jour. 125-213 - 221.

14 - MAHOUY G. (1961) - Spectrophotométrie de flamme. thèse de doct. vét. Lyon.

15 - PIERSON R. E. (1958) - J. Amer. vét. méd. Ass.133-307

16 - SAIGRE Michel (1954) - Thèse de doctorat vétérinaire Toulouse.

17 - SCHAPER et LUTJE : Revue générale de médecine vétérinaire-tome 41, 1932, page 292.

18 - SUTTLE N. F. et FIELD A. C. (1968) - J. Comp. path. 78,351 - 362 +une plate, 363 - 370.

19 - TODD J. R. et THOMPSON R. H. - British vétérinary journal 1965, 121,90.

20 - TOKUROICHIDA et MANABU NOBUOKA (1969) - Determination of sérum copper with atomic apsorption spectrophotométry. Clin. Chim. Acta, 24,299-303.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION..... 1

Première partie :

DONNES GENERALES SUR LE CUIVRE CHEZ LES OVINS.. 3

1) Biochimie du cuivre :..... 5

a) Généralités..... 5

b) Le cuivre dans le foie..... 6

c) Le cuivre dans le lait..... 9

d) Le cuivre dans le sang..... 10

e) Rôle catalytique du cuivre..... 12

2) Importance de ses variations en pathologie ovine :..... 17

A - Les hypocuproses..... 18

B - Les intoxications cupriques..... 21

Deuxième partie :

APPLICATION DE LA SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE AU DOSAGE DU CUIVRE SERIQUE CHEZ LES OVINS..... 27

A - TECHNOLOGIE : LA SPECTROPHOTOMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE..... 29

- Principe..... 36

- Appareillage et technique..... 36

a) Caractéristiques générales..... 36

b) Production de la flamme..... 40

c) Matériel et technique utilisés... 41
d) Préparation des échantillons..... 41
e) Etalonnage..... 42
f) Précision des mesures..... 43

B - RESULTATS..... 45

CONCLUSION..... 53

BIBLIOGRAPHIE..... 57